



МИРОСЛАВ ГЕНОВ

**СЪВРЕМЕННИ
ТЕНДЕНЦИИ
В ИЗКУСТВЕНОТО
ОСЕМЕНЯВАНЕ
ПРИ КУЧЕТО**

**СОФИЯ
2025**

д-р Мирослав Генов

**СЪВРЕМЕННИ ТЕНДЕНЦИИ
В ИЗКУСТВЕНОТО
ОСЕМЕНЯВАНЕ ПРИ КУЧЕТО**

**СОФИЯ
2025**

СЪВРЕМЕННИ ТЕНДЕНЦИИ В ИЗКУСТВЕНОТО ОСЕМЕНЯВАНЕ ПРИ КУЧЕТО

© д-р Мирослав Генев PhD

Рецензенти: Доц. д-р Калин Христов

Доц. д-р Никола Методиев

Българска, първо издание

Формат 70x100/16, печатни коли: 8,25

Авторски коли (8 стр./1800 зн./стр.): 17,5

ISBN: 978-619-7703-94-8

Издателство: Интел Ентранс

Отпечатване: Интел Ентранс

София, 2025

Всички права запазени. Нито една част от тази книга не може да бъде размножавана или предавана под никаква форма или начин, електронен или механичен, включително фотокопиране, записване или чрез каквито и да е системи за съхранение на информация, без предварително писмено разрешение на автора.

ВЪВЕДЕНИЕ

Изкуственото осеменяване (ИО) при кучета е биотехнология в областта на репродуктивната медицина, при което в случаи на невъзможност за естественото чифтосване на животните, се прилага човешка намеса. Тази намеса включва мануелно събиране на еякулати от мъжкото куче и депониране директно в репродуктивния тракт на женското куче, с цел постигане на заплождаване, успешна бременност и раждане.

Първото документирано успешно изкуствено осеменяване при кучета е през 1785 г. от Spallanzani, а първото успешно използване на замразена кучешка сперма за ИО на женски кучета е докладвано през 1969 г. от Seager. В последното десетилетие на 20-ти век, изследователи от България правят първи опити за криоконсервация на сперма от кучета. Докладвани са за първи път в света данни за замразяване на еякулати в големи обеми и нови разфасовки – алуминиеви туби от 5 мл, чрез използване на оптимизирана биотехнология (Маринов, М. и кол. 1998; Ivanova-Kicheva *et al.* 1995; Ivanova-Kicheva *et al.* 1997). Изследванията върху замразяемостта и факторите, които влияят на оплодителния потенциал на сперматозоидите от куче се задълбочават с проведени анализи върху Hemizona assay способност на сперматозоидите преди и след замразяване – размразяване (Ivanova, M. *et al.*, 1999).

В днешно време изкуственото осеменяване при кучетата става все по широко разпространено и постепенно се превръща в рутинна и общоприета техника за разплод. Като резултат, през последните две десетилетия технологията за контролираното размножаването на кучета чрез ИО бележи много голям ръст. Усъвършенстват се не само начините на получаване на семенна течност, методите на инсеминация, възможностите за по прецизна преценка на сперматозоидите чрез компютърен анализ, начините на съхраняване на спермата, но все по оптимално се разработват ефективни технологии за замразяване и размразяване на еякулатите, както и тяхното съхранение на ултраниски температури. Учените успяват да преодолеят негативните ефекти на ултраниските температури върху гаметите, чрез компенсиране на осмотичния и температурен шок. Всички тези технологични успехи позволяват да се запазят структурната и функционална цялост на сперматозоидите и да се съхрани тяхната оплодителните способност.

Изредените биотехнологични постижения позволяват да имаме избор за най-подходящия метод на инсеминация, с който да се повиши максимално процента на забременяване при кучета.

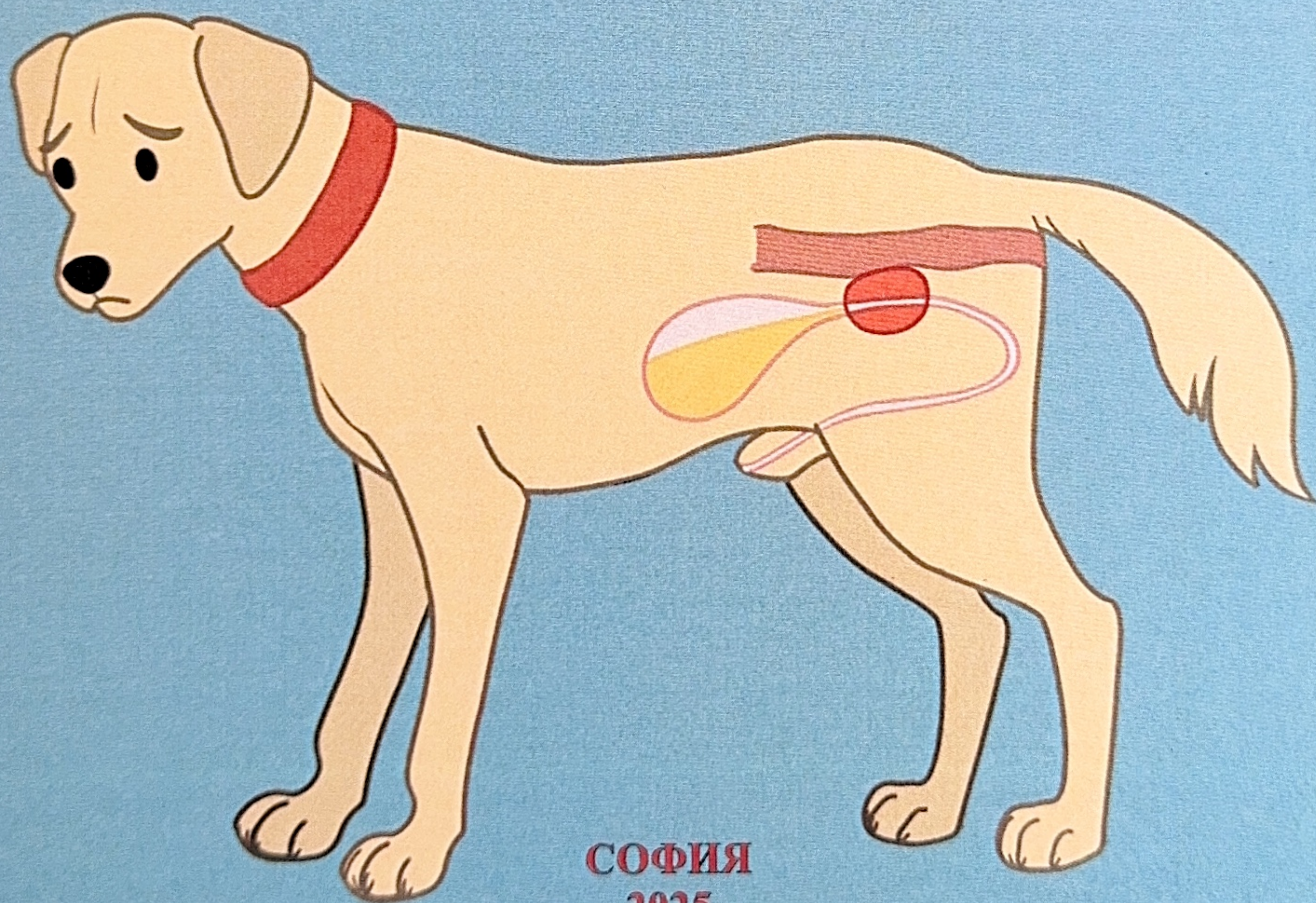
Успехът от успешно прилагане на ИО е многофакторен и зависи, както от избраната технология за съхранение или замразяване на сперматозоидите от мъжки кучета, начина на инсеминация, но зависи също така зависи и от други правила, касаещи женското куче. В тази насока, за постигането на успешно забременяване е добре да се спазват следните правила, касаещи женското куче, а именно:

- Здрав и зрял репродуктивен тракт на женското куче;
- Инсеминация в оптималния момент на процеса овулация;
- Прилагане на подходящ метод на инсеминация;
- Използване на разплодни животни със съхранен репродуктивен потенциал;
- Други правила, които ще разгледаме допълнително.

В настоящата монография „Съвременни тенденции в изкуственото осеменяване при кучето“, ще бъдат разгледани освен основни знания в областта на анатомията и физиологията на репродуктивната система при мъжки и женски кучета, но ще се представят нови подходи за оценка на репродуктивния статус чрез съвременни ендокринологични и клинични методи за преглед на пациентите. Анализите по настоящите изследвания са проведени със съвременна, високоинформативна и специализирана криоапаратура. Сравнително са представени резултати, доказващи високата ефективност на биотехнология за ИО на женски кучета чрез ехографски подходи и използване на сперматозоиди с добре съхранена функционална и оплодителна способност. Биотехнологията може да намери практическото приложение при изкуствено осеменяване на кучета.

МИРОСЛАВ ГЕНОВ

**РОЛЯ НА ДОБРОКАЧЕСТВЕНА
ХИПЕРПЛАЗИЯ НА
ПРОСТАТАТА ПРИ КУЧЕТА
ВЪРХУ БИОЛОГИЧНАТА И
ФУНКЦИОНАЛНА АКТИВНОСТ
НА СПЕРМАТОЗОИДИТЕ**



**СОФИЯ
2025**

д-р Мирослав Генов

**РОЛЯ НА ДОБРОКАЧЕСТВЕНА
ХИПЕРПЛАЗИЯ НА
ПРОСТАТАТА ПРИ КУЧЕТА
ВЪРХУ БИОЛОГИЧНАТА И
ФУНКЦИОНАЛНА АКТИВНОСТ
НА СПЕРМАТОЗОИДИТЕ**

**СОФИЯ
2025**

**РОЛЯ НА ДОБРОКАЧЕСТВЕНА ХИПЕРПЛАЗИЯ НА
ПРОСТАТАТА ПРИ КУЧЕТА ВЪРХУ БИОЛОГИЧНАТА И
ФУНКЦИОНАЛНА АКТИВНОСТ НА СПЕРМАТОЗОИДИТЕ**

© д-р Мирослав Генев PhD

**Рецензенти: Доц. д-р Калин Христов
 Доц. д-р Никола Методиев**

Българска, първо издание

Формат 70x100/16, печатни коли: 8,25

Авторски коли (8 стр./1800 зн./стр.): 17,5

ISBN: 978-619-7703-93-1

Издателство: Интел Ентранс

Отпечатване: Интел Ентранс

София, 2025

Всички права запазени. Нито една част от тази книга не може да бъде размножавана или предавана под никаква форма или начин, електронен или механичен, включително фотокопиране, записване или чрез каквито и да е системи за съхранение на информация, без предварително писмено разрешение на автора.

УВОД

Болестите на простатата при кучетата стават все по разпространени и в последните годинзучаване е актуално и важно. Тези заболявания представляват голям проблем за кучетата и техните стопани в случаите, когато няма своевременна диагностика и лечение. В тази насока, изучаването на болестите на простата е важно за по-доброто разбиране на заболяването и провеждането на своевременна профилактика.

Простатната жлеза (ПЖ) при кучето е единствената допълнителна полова жлеза, която играе важна роля в репродуктивния процес, тъй като в нея се секретират основните компоненти, формиращи спермалната плазма (СП). Заболяването доброкачествена простатна хиперплазия (ДПХ) е сравнително ново и не е живото застрашаващо за кучетата, но има мнение че може да доведе до по-висока предразположеност на организма към други заболявания. Счита се, че ДПХ може да окаже индиректно влияние върху репродуктивния статус при мъже, но данните за ефекта на ДПХ върху репродуктивните качества при разплодни кучета са оскъдни и все още има много неизяснени въпроси. Не може да се даде категоричен отговор на въпроса дали кучета, страдащи от ДПХ могат да се използват успешно за разплод. Също така, съществуват противоречиви мнения как това заболяване повлиява върху половото поведение на разплодни кучета и дали ДПХ може да индуцира промяна в оплодителна способност на мъжките гамети. За практиката на контролирано размножаване чрез изкуствено осеменяване на женски кучета със свежа или замразена сперма е важно да се гарантира, че използването на еякулати от кучета с ДПХ ще дадат добър резултат и ще се родят здрави и пълноценни приплоди. Все още обаче, няма цялостна репродуктивна биотехнология, която да решава изцяло този въпрос. Този факт е една от многото основателни причини за необходимостта да се прави ранна диагностика на заболяването ДПХ и своевременно да се прилага нужната профилактика и лечение.

Провеждането на периодичен неинвазивен скрининг на състоянието на простатата, както и общата оценка на здравето при кучета, би било препоръчително като част от програма за превантивна медицина на гериатрични заболявания при кучета. В тази насока, за да се избегне късното диагностициране на заболяването е необходимо периодично провеждане на редица анализи и изследвания. Едни от тях са образната диагностика, чрез рентгенови снимки или ултразвуково изследване, но в

последните години все повече се прилага и метода на компютърна томография. Тези методите дават възможност за по-точно определяне размера и структурата на простатна жлеза. Може да се използват други допълнителни анализи, като: изследвания на кръвни показатели, микробиологичен анализ на урината на кучето, което дава данни за наличие на бактериална инфекция; микроскопско изследване на клетки в урината и на клетки в простатна течност, както и изследване на цитологични проби от простатата. Чрез тези комплексни анализи ще се постигне цялостна информация за репродуктивното здраве на кучета и евентуалната опасност от развитие на заболяването ДПХ. В допълнение гарантирано може да се даде отговор на въпроса дали това заболяване влияе на репродуктивния статус и по-специално на основните биологични параметри на сперматозоидите.

Актуалността на разглежданата тема се подчертава от непрекъснатото нарастване на търсенето на замразена сперма от кучета за нуждите на практиката. Известно е, че използването на криотехнологии за дълготрайно съхранение на гамети при кучета, подпомага осъществяването на планирана селекция, с оглед запазване на генетичен материал от избрани индивиди в криобанки. В тази насока, въвеждането на нови или оптимизиране на известни биотехнологии, в случая при кучета с ДПХ, ще гарантира по-голям успех от технологията на изкуствено осеменяване със замразена сперма. Настоящите изследвания са насочени да дадат отговор на някои нерешени до момента въпроси, свързани с диагностиката, развитието и клиничната проява на ДПХ при кучета и възможността за прилагане на криотехнологии за съхранение и използване за ИО на женски кучета с еякулати от засегнати пациенти. Чрез иновативни разработки ще се проучи ролята на това заболяване върху репродуктивния статус на разплодни животни. Ще се направи подробен протеомен анализ на протеиновия профил на спермалната плазма (СП), като основен фактор влияещ на биологичните параметри и замразяемостта на сперматозоидите. Идеята е да се подпомогне ветеринарната практиката с иновативно предложение за прилагане на разработена нова биотехнология за криоконсервация на сперма от болни от ДПХ кучета, даваща гаранции за успех при практическо приложение.

ОПЕРАТИВНО ЛЕКУВАНЕ НА ФРАКТУРА НА РАМЕННАТА КОСТ ПРИ ЗЕЛЕНА ИГУАНА

Николай Механджийски¹, Илия Пеев¹, Илия Райчев¹,
Мирослав Генов¹, Елена Механджийска²

¹Лесотехнически университет – София; ²Ресбиомед – София

РЕЗЮМЕ

Статията представя единичен случай на фрактура на дясната раменна кост при зелена игуана. Причина за възникване на фрактурата е травма вследствие на въртливо движение извършено от игуаната. Диагнозата беше поставена след извършена радиография на десния гръден крайник. Избраният оперативен метод за лечение на фрактурата включваше открито наместване и интрамедуларна остеосинтеза (ИМО) с игла на Киршнер. Процесът на оздравяване беше мониториран клинично и радиографски. За успешния изход на операции от този вид при зелената игуана важно значение има правилното протичане на постоперативния период.

Ключови думи: зелена игуана, интрамедуларна остеосинтеза, раменна кост.

Въведение

Зелената игуана е сравнително нов, но вече доста често срещан вид за България. Този факт изисква повишаване на квалификацията на ветеринарните специалисти работещи с тях. Собствениците на зелени игуани често се сблъскват с различни здравословни проблеми, включително и ортопедични. Фрактурите на дългите кости при влечугите най-често се дължат на травма или метаболитни костни заболявания (1). Вторичните фрактури свързани с метаболитни костни заболявания са подходящи както за външна фиксация съпроводена с корекция на калциевия дисбаланс така и за лечение, чрез ИМО техники (2). Използването на игли на Стейнман комбинирани със серкляж позволява добро аксиално фиксиране на фрактурата и значителна стабилност по отношение ротация около собствената ос. Друг подходящ метод за фиксиране на такъв вид фрактури е ИМО с игли на Киршнер. Често използван постоперативен метод за допълнителна стабилизация е фиксирането на крайника към тялото чрез Санпласт. Зарастването на фрактурите при влечугите за разлика от бозаиниците протича значително по дълго (5–6 месеца) (3). Важна част от процеса на постоперативен мониторинг е извършването на периодични рентгенови контролни изследвания.

Целта на този доклад е да опише всички аспекти на отвореното наместване чрез ИМО, като метод при игуаната.

Материал и методи

В клиниката беше представена зелена игуана на възраст 3 г. и тегло 1800 г с дисфункция в гръдния десен крайник. От анамнезата установихме, че това състояние е възникнало след скок от височина близо 1 m. След проведеното ортопе-



RESEARCH ARTICLE

Changes in the Phospholipid Asymmetry of Buffalo Sperm Plasma Membrane in Relation to Cryopreservation Technology

MG Ivanova*, DG Gradinarska, MS Genov, TS Tsvetkov and BA Georgiev

Institute of Biology and Immunology of Reproduction "Acad. Kiril Bratanov" at Bulgarian Academy of Sciences
Tsarigradsko shose 73, 1113, Sofia, Bulgaria

*Corresponding author: kichevamar@abv.bg

ARTICLE HISTORY (18-273)

Received: July 28, 2018
Revised: November 06, 2018
Accepted: November 09, 2018
Published online: January 28, 2019

Key words:

Buffalo
Cryopreservation
Sperm plasma membrane

ABSTRACT

This study evaluates the integrity of the plasma membrane (PM), and the mitochondrial transmembrane potential and their relationship with the motility and kinematic parameters of buffalo spermatozoa frozen in pellets and straws. Ejaculates (n=20) from eight Bulgarian Murrah buffaloes were frozen in pellets (Nagaze-Niva; medium GH22L®) and in straws (Cassou; medium Triladyl®) at final sperm concentration $80 \times 10^6/\text{ml}$. The comparative CASA analysis of the motility and kinematic parameters of spermatozoa showed significant differences in the rapid motility and in the VCL values in favor of pellets vs straws ($P < 0.05$). The molecular changes in PM phospholipid asymmetry (assessed by double staining Annexin V-Cy3™ Apoptosis Detection Kit) were higher after freezing – thawing, when compared to the fresh semen ($P < 0.05$). No significant differences were observed in the number of live and functional spermatozoa with intact PM (6CF+/Ann V Cy3-) and the number of apoptotic spermatozoa (6CF+/Ann V Cy3+) between the two freezing technologies. The percentage of spermatozoa with well preserved and functioning mitochondria visualized by Rhodamine123 (Rh123) in the fresh semen was higher, when compared to spermatozoa after cryopreservation ($P < 0.05$). An increase in the percentage of cells with nonfunctional mitochondria (Rh123- or Rh123+) was observed after cryopreservation using both freezing technologies. In conclusion, the freezing of buffalo sperm in pellets, using GH22L® protective medium, preserves high sperm motility, kinematics, PM integrity, and mitochondrial transmembrane potential, which is a guarantee of good fertilization capacity of the spermatozoa.

©2018 PVJ. All rights reserved

To Cite This Article: Ivanova MG, Gradinarska DG, Genov MS, Tsvetkov TS and Georgiev BA, 2019. Changes in the phospholipid asymmetry of buffalo sperm plasma membrane in relation to cryopreservation technology. Pak Vet J, 39(2): 289-292. <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2019.020>

INTRODUCTION

The sperm PM is a complex mosaic structure organized in discrete macrodomains that reflect compositional and functional heterogeneity. PM is characterized with unusual proportion of polyunsaturated phospholipids that give a special physical characteristics and compartmentalization of different proteins and lipids into the following domains - acrosome, postracosome, equatorial segment, mid-piece and tail (Holt and North, 1984). The interest in the structural-functional organization and the alterations of sperm surface in cryobiology is caused by the high sensitivity of PM to low temperatures. A delicate reorientation and modification of PM molecules take place during sperm cryopreservation.

It has been found that the bilayer lipid structure of the PM is vulnerable to varying degrees but is particularly sensitive in the region of the acrosome domain. Such a seemingly elusive effect may affect the fertilization capacity of the sperm cells at different levels. For example, it could influence the spatially dependent signaling pathways required for the acrosomal exocytosis, the development of membrane fusogenicity and antigen migration (Yanagimachi, 1994).

Low and ultralow temperature storage of spermatozoa is accompanied by structural and functional changes in PM and mitochondria (Celeghini *et al.*, 2008; Dziekońska *et al.*, 2009). The cryopreservation also affects the PM lipid ratio, such as decrease in the phospholipid content through loss of phosphatidylcholine and phosphatidy-

POSTPARTUM UTERINE PROLAPSE IN A BITCH – CASE REPORT

Miroslav Genov

Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria

E-mail: miroslavgenov@abv.bg

(Submitted: 25 July 2024; Accepted: 27 September 2024; Published: 25 June 2025)

ABSTRACT

A 2-year old postpartum bitch was presented to Multidisciplinary Veterinary Clinic 'Bulgaria', Sofia with symptoms of shock and a complete bicornuate prolapse of the uterus. Measures to correct the shock were taken, while the uterine tissue was disinfected with an isotonic solution. After the patient was hemodynamically stable, an ovariohysterectomy was performed, followed by cervicopexy. The patient's postoperative recovery involved temporary urinary retention due to swelling of soft tissues, which was managed with a foley catheter two days. Antibiotic, antiinflammatory treatment and pain reaction monitoring after the surgery were performed. The patient status was followed daily and full recovery was registered after a week.

Key words: bitch, postpartum uterine prolapse, treatment.

Introduction

Uterine prolapse is a caudal extrusion of the uterus through the cervix into the vaginal canal, and in severe cases, out of the vaginal opening. Most cases involve only one of the uterine horns, although cases where both are involved have been (Anderhurst SR *et al.*, 1975), as well as in this report.

Prolapse of the uterus occurs seldom in bitches and queens (Maxson FB *et al.* 1969), and is a condition that, for the rare cases it does, develops during or after partuition, and has been reported in those, delivering a large litter or ones, experiencing dystocia.

There is no exact etiology to this condition. Caudal dislocation of the uterus may be caused by trauma associated with forceful fetal extraction, dystocia, increased motility during or right after partuition as well as excessive straining during delivery (Anderhust SR, 1975; Miesner DM *et al.*, 2008). Another reason may be anomalies in the branching tissue structures between the placenta and the uterine wall, leading to incomplete separation between the two.

For the prolapse to occur, certain conditions must be present, such as the cervix being dilated, the suspensory ligaments being stretched (Latha C *et al.*, 2014) or even ruptured and the myometrial tone to be decreased in order for the uterus to pass through the cervical canal and into the vagina.

The choice of treatment depends on many factors, such as the condition of the prolapsed organ and the wishes of the owner – whether he intends to use the animal for breeding purposes in the future or not. The conservative approach of replacement of the uterus should only be attempted if the organ appears viable (Miesner DM *et al.*, 2008). Debridement of the exposed tissue is necessary before any attempt of reducing the prolapse is made. Use of hypertonic solution and application of osmotic agents on the prolapsed tissue has been described in literature (Jadhao A. *et al.*, 2020; Feldman EC *et al.*, 2004). When the prolapsed uterine tissue is not viable, the recommended choice of treatment is surgical – an ovariohysterectomy, particularly when one or both uterine horns are fully everted (Payan-Carreira *et al.*, 2012).

Case description

This case report describes the caudal uterine dislocation of both the uterine horns and uterine body in a 2-year old mix breed female dog (Fig. 1, 2). The patient was presented to the clinic in

<https://doi.org/10.61308/OCXN8916>

Vulval adenocarcinoma in a female cat - Case report

Miroslav Genov

Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria, 1614, Sofia, Bulgaria

Corresponding author: miroslavgenov@abv.bg

Citation: Genov, M. (2025). Vulval adenocarcinoma in a female cat - Case report. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, 62(4), 49-54

Abstract: A 12-year-old female mixed-breed cat was referred to the Multidisciplinary Veterinary Clinic for evaluation of persistent bloody vulvar discharge, which had been present for approximately 2–3 weeks. The cat had no notable prior medical history. The owner reported that the dog had a normal appetite and behavior, aside from occasional excessive grooming of the perineal area.

Vaginal cytology performed at the referring clinic revealed a highly cellular smear dominated by neoplastic epithelial cells, suggestive of a malignant epithelial neoplasm originating from the lower reproductive tract (Goldschmidt and Shofer, 1992). As the cat's reproductive status was unknown, serum progesterone was measured to confirm spaying, which was supported by low hormone levels (Scully, 2023).

Cystoscopy and vaginoscopy were performed under general anesthesia (Morgan and Forman, 2015). Cystoscopy revealed no abnormalities in the urethra or urinary bladder. Vaginoscopy, however, showed extensive proliferative and ulcerative lesions, occupying the caudal vaginal vault, and extending toward the vestibule (MacLachlan and Kennedy, 2017). The mucosa appeared friable, hyperemic, and nodular. Multiple biopsy samples were obtained, and histopathology confirmed the diagnosis of vulval adenocarcinoma, a rare neoplastic condition in felines (DeBoschere et al., 2002).

Vaginectomy combined with sentinel lymph node dissection was discussed as a treatment option (Withrow et al., 2020). However, due to the advanced age of the patient and concerns regarding surgical risk and postoperative quality of life, the owner declined surgical intervention. The cat is currently managed with symptomatic treatment and remains under clinical follow-up.

This case highlights an uncommon presentation of vulval adenocarcinoma in a spayed cat. It emphasizes the importance of comprehensive diagnostic evaluation and individualized treatment planning in cases of unexplained vulvar discharge.

Keywords: vulval adenocarcinoma; cat; vaginoscopy; vaginal neoplasia

INTRODUCTION

Vulval adenocarcinoma, as well as transitional cell carcinoma and squamous cell carcinoma, is rare in all animal species (Foster, 2007). The most comprehensive documentation available is a retrospective study, reporting seven cases of this condition in cats. These cases involved spayed female cats aged between 8 and 17 years. Histological examination revealed two distinct patterns: tubular and solid. Despite surgical intervention, the prognosis was generally poor, with most cats experiencing local recurrence or suspected metastasis within 2 to 18 months post-di-

agnosis (median survival of 9.2 months) (Welsh et al., 2010). There is also a case study published on vulval apocrine adenocarcinoma (the cat was euthanized) (Conrado et al., 2023).

CASE REPORT

A 12-year-old female mixed-breed cat was referred to the Multidisciplinary Veterinary Clinic for evaluation from another clinic. Bloody discharge from the vulva was noted 3 weeks previously. The vaginal bleeding was intermittent, with episodes occurring sporadically rather than



Редакцията на списание:

BULGARIAN JOURNAL OF ANIMAL HUSBANDRY

издава настоящата бележка на:

Мирослав Генов

в уверение на това, че неговата статия:

**Comprehensive Approach to Oesophageal Obstruction in an Alpaca: From
Imaging to Surgery**

ще бъде публикувана в бр. 5/2025 г. на списанието.

Отг. редактор на сп.

Bulgarian Journal of Animal Husbandry:

Естел Димитрова

Гр. София

12.08.2025 г.

Comprehensive Approach to Oesophageal Obstruction in an Alpaca: From Imaging to Surgery

Miroslav Genov

Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria

Abstract

A 7-year-old alpaca was presented to Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria with a history of progressive weight loss, regurgitation, ptyalism, and anorexia. Clinical examination raised suspicion of an oesophageal disorder. Computed tomography (CT) of the cervical region revealed a suspected intraluminal obstruction in the proximal oesophagus. Subsequent gastroscopic examination confirmed the presence of a compact bolus of hay occluding the oesophageal lumen. Endoscopic attempts at removal were unsuccessful due to the density and size of the obstruction. Surgical intervention via a cervical oesophagotomy was performed to extract the impacted material. The procedure was completed without complications, and the patient recovered uneventfully with supportive postoperative care. This case highlights the diagnostic and therapeutic challenges of oesophageal obstruction in South American camelids and emphasizes the importance of a multimodal approach, including advanced imaging, endoscopy, and surgery, for effective case resolution.

Key words: obstruction, alpaca, CT, gastroscopy, oesophagus, surgery

Introduction

Oesophageal obstruction, commonly referred to as choke, is a relatively frequent condition in ruminants that requires prompt diagnosis and management to prevent serious complications such as aspiration pneumonia, ruminal tympany, or oesophageal rupture. It is typically classified as intraluminal (due to feed boluses or foreign bodies) or, less commonly, extrinsic (resulting from abscesses, tumors, or pressure from adjacent structures) (R et al., 2021). The most prevalent condition is the intraluminal obstruction and it happens when foreign bodies like large feedstuff, tauparlin fabric, trychophytobezoars and etc. become lodged in the lumen of the oesophagus (Kumar et al., 2023). Complete oesophageal obstruction is a medical emergency that necessitates prompt intervention, as it prevents the eructation of ruminal gases. This can rapidly lead to acute tympany and respiratory distress, posing a serious risk to the animal's life (Franz et al., 2002).

The present study reports about an uncommon case of complete cranial cervical choke caused by phytobezoar in a male alpaca and its surgical management.

Case report

A 7-year-old alpaca was presented to Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria with a history of progressive weight loss, regurgitation, ptyalism, and anorexia. Clinical examination raised suspicion of an oesophageal disorder. The animal was housed in a controlled environment together with three other alpacas and was not kept in contact with other species.

Advanced diagnostic imaging was performed to investigate the suspected oesophageal pathology. A computed tomography (CT) scan of the cervical region was conducted using a Siemens SOMATOM go.Now scanner. The animal was placed in sternal recumbency under light sedation, and a helical scan was obtained. The CT images revealed a well-defined intraluminal structure occupying the proximal cervical oesophagus (Fig. 1), consistent with a foreign body or feed bolus. There was no evidence of perforation, emphysema, or external compression.

Хирургично лечение на мастоцитом на вулва при куче – случай от клиничната практика

Мирослав Генов

Многопрофилна Ветеринарна Клиника България, 1614, София, България

Surgical Management of a Vulvar Mast Cell Tumor in a Dog – A Case from Clinical Practice

Miroslav Genov

*Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria, 1614, Sofia, Bulgaria
E-mail: miroslavgenov@abv.bg*

Кратко научно съобщение

РЕЗЮМЕ

Осемгодишен интактен женски йоркшир териер беше представена в Многопрофилна Ветеринарна Клиника България поради прогресивно нарастваща маса в областта на вулвата. При клиничния преглед се установи плътна, еритематозна перивулварна маса без наличие на регионална лимфаденопатия. Хематологичните и биохимичните показатели бяха в норма, а образната диагностика (гръдна рентгенография и абдоминален ултразвук) не показва наличие на метастази. Цитологичното изследване бе съвместимо с мастоцитен тумор (МСТ), което беше потвърдено хистопатологично като тумор от II степен по Patnaik и нискостепенен по Kiupel с ниска митотична активност (Martins et al., 2021). Поради локализацията на тумора и необходимостта от осигуряване на широки хирургични граници беше извършена пълна

SUMMARY

An eight-year-old intact female Yorkshire Terrier was presented to the Multidisciplinary Veterinary Clinic in Bulgaria due to a progressively enlarging mass in the vulvar region. Clinical examination revealed a firm, erythematous perivulvar mass without regional lymphadenopathy. Hematological and biochemical parameters were within normal limits, and diagnostic imaging (thoracic radiographs and abdominal ultrasound) showed no evidence of metastasis. Cytological evaluation suggested a mast cell tumor (MCT), which was confirmed through histopathology as a Patnaik grade II, Kiupel low-grade tumor with low mitotic activity (Martins et al., 2021). Due to the anatomical location of the tumor and the necessity of achieving wide surgical margins, a complete vulvectomy was performed with curative intent. The urethra was not infiltrated by the tumor, and therefore urethrostomy

Всеобхватен подход към невъзпалителна алопеция (Алопеция X) при кастриран женски померан: лечение с имплант с деслорелинов ацетат

Мирослав Генов

Многопрофилна Ветеринарна Клиника България, 1614, София, България

Comprehensive Approach to non- inflammatory Alopecia (Alopecia X) in Neutetered Female Pomeranian Dog Managmet with Deslorelin Acetate Implant

Miroslav Genov

*Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria, 1614, Sofia, Bulgaria
E-mail: miroslavgenov@abv.bg*

Кратко научно съобщение

РЕЗЮМЕ

4-годишен кастриран женски померан беше представен във Многопрофилна Ветеринарна Клиника – България с анамнеза за хроничен кожен проблем, изразяващ се в хипотрихоза, алопеция и хиперпигментация в каудалната част на тялото – около перинеума и вулвата, по каудалната част на бедрата и вентралната повърхност на тялото. След анализ на проведеното до момента лечение и дерматологичен преглед, беше изготвен списък с диференциални диагнози. След провеждането на редица диагностични изследвания и въз основа на клиничната картина, повечето от диференциалните диагнози бяха изключени, с изключение на Алопеция X. Алопеция X, или арест на космения цикъл, представлява неинфламаторно, непруритично кожно заболяване, което се среща често при северни породи

SUMMARY

A 4-year-old neutered female pomeranian dog was presented to Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria with a history of chronical skin problem with hypotrichosis, alopecia, hyperpigmentation in the caudal body area, around the perineum and vulva, caudal thighs and ventral part of the body.

After analysis of previous therapy, dermatology examination, a list of differential diagnoses was complied. After performing several diagnostic tests and based on the clinical picture, most of the differential diagnoses were excluded, without Alopecia X.

Alopecia X or hair cycle arrest is a non-inflammatory non pruritic skin disorder commonly seen in Nordic dogs (Frank, 2006). The pomeranian is recognized as one of the predisposed breeds for



СЛУЖЕБНА БЕЛЕЖКА

Настоящата служебна бележка се издава на:

Мирослав Генов

В уверение на това, че статията, в която той е автор,

със заглавие:

EVALUATION OF A LARGE-VOLUME CRYOPRESERVATION PROTOCOL WITH SEMINAL PLASMA REMOVAL FOR
EJACULATES FROM DOGS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA,

и съавтори:

Десислава Градинарска-Янакиева

е рецензирана и приета за печат в пълен текст в научно списание „TRADITION AND MODERNITY
IN VETERINARY MEDICINE “ с ISSN 2534-9333; e-ISSN 2534-9341

Статията ще бъде публикувана в предстоящия брой на научното списание.

25.08.2025г.

Гр. София

Главен редактор:.....

проф. д-р Красимира Генова



<http://scij-tmvm.com/>

EVALUATION OF A LARGE-VOLUME CRYOPRESERVATION PROTOCOL WITH SEMINAL PLASMA REMOVAL FOR EJACULATES FROM DOGS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

Miroslav Genov¹, Desislava Gradinarska-Yanakieva²

¹*Multidisciplinary Veterinary Clinic "BULGARIA", 1614, Sofia, Bulgaria*

²*Institute of Biology and Immunology of Reproduction „Acad. K. Bratanov” - Bulgarian Academy of Sciences, 1113, Sofia, Bulgaria, d.gradinarska@ibir.bas.bg*

ABSTRACT

The present study evaluated cryopreservation of spermatozoa from dogs with benign prostatic hyperplasia (BPH) following seminal plasma removal. Semen was collected from 10 healthy and 10 BPH dogs, processed to remove seminal plasma, frozen at 500µL in cryovials, and thawed for CASA analysis. Post-thaw sperm activity and trajectory straightness in affected dogs were well preserved and matched those in healthy dogs. In both groups, curvilinear, straight-line, and average path velocities decreased significantly after freezing ($p<0.05$), whereas straightness and progressive motility remained stable with no significant changes in linearity or wobble in either group. Only the amplitude of lateral head displacement and beat-cross frequency demonstrated a significantly greater reduction post-thaw in BPH dogs compared to controls ($p<0.05$).

These results demonstrated that the cryopreservation protocol developed for spermatozoa from dogs with BPH, which involves the removal of seminal plasma and large-volume rapid freezing, is effective and suitable for long-term semen storage.

Keywords: Cryopreservation, Spermatozoa, Dogs, Benign prostatic hyperplasia, Seminal plasma removal.

INTRODUCTION

Technologies for long-term storage of genetic material at ultralow temperatures began to develop in the middle of the last century. They have proven their advantages in *in vitro* procedures used to enrich and improve gene pools in animals (Estudillo et al. 2021; Hiemstra et al. 2006; Mara et al. 2013). At the same time, it is well known that cryopreservation affects the structure and function of spermatozoa, reducing their viability and fertility (Lemma 2011). Furthermore, a correlation between cryopreservation and age has been reported in dogs (Hesser et al. 2017; Fuente-Lara et al. 2019). The authors compared the quality parameters of spermatozoa from fresh and freeze-thawed semen from dogs of different ages and found relevant associations.

Numerous studies on the role of different freezing rates and protective media in canine semen cryopreservation have been conducted, and it has been shown that the spermatozoa of this species are more sensitive to low temperatures, similar to other species such as boars and horses (Schäfer-Somi et al. 2022; Oldenhof et al. 2012; Knox 2015; Yeste 2016).

With the increase in the number of domestic dogs, there has been an increase in the number of reports of patients developing benign prostatic hyperplasia (BPH). Specific proteins in the seminal plasma (SP) that are absent in healthy patients have been reported (Genov et Ivanova 2019; Gradinarska et al. 2019; Genov et al. 2020). Thus, the role of prostatic fluid (PF) in cryopreservation of canine spermatozoa remains unclear. Some prostate components that form the liquid phase of the ejaculate may have different positive or negative effects on sperm cell functionality following low-temperature storage or cryopreservation (Sirivaidyapong et al. 2001; Strzeżek et Fraser 2009). A positive effect on sperm motility and viability has been reported when PF was added to canine epididymal spermatozoa (Hori et al. 2005). At the same time, however, this positive effect was not demonstrated in fresh samples after freezing and thawing. Korochkina et al. (2014) suggested that some of the specific proteins present in PF are likely “detrimental” to sperm cell survival during low-temperature storage or cryopreservation.

DIAGNOSTIC IMAGING AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SPERM AND SEMINAL PLASMA PROTEINS IN DOGS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

Maria Ivanova^{1*}, Desislava Gradinarska¹, Miroslav Genov^{1,2}, Diana Zasheva¹, Boyko Georgiev¹

¹Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Biology and Immunology of Reproduction
“Acad. Kiril Bratanov”, Department of Reproductive Biotechnologies and Cryobiology of Gametes,
Blvd “Tsarigradsko shose” 73A, 1113 Sofia, Bulgaria

²Central Veterinary Clinic – Sofia, Chavdar Mutafov Str. 25B

*kichevamar@abv.bg

The disease benign prostatic hyperplasia (BPH) occurs in men, dogs and less frequently in other species. BPH is a state of endocrine dysregulation related to age, which in dogs is most common in uncastrated males after 6 years of age. Information on the effect of BPH on semen quality and seminal plasma proteins (SPPs) is of great interest for the practice of artificial insemination and semen cryopreservation. The aim of this study was to evaluate the size and structure of the prostate by echographic and radiographic imaging; to assess semen quality by CASA and to compare by HPLC and SDS-PAGE analysis the SPPs profiles between healthy dogs (BPH–) and dogs with BPH (BPH+). The increase of the ejaculate volume (4.96 ± 2.28 for BPH+ and 3.59 ± 2.0 for BPH–, $p = 0.03$) and alkalization of sperm (pH 7.18 ± 0.13 for BPH+ and pH 6.74 ± 0.11 for BPH–) in BPH dogs were demonstrated. There were statistically significant differences in motility, progression and speed parameters of spermatozoa between the two groups. It has been shown that sperm head area in dogs with BPH is credibly smaller, $20.89 \pm 2.34 \mu\text{m}^2$, whereas in comparison to healthy dogs this value is $29.11 \pm 6.21 \mu\text{m}^2$. The results of HPLC assay showed that BPH is associated with changes in the amount and content of certain proteins from the seminal plasma (SP). Protein characterization gives information that proteins of the SP can serve as relevant markers for the evaluation of the biological potential of the sperm. As a conclusion of the research, it was found that BPH in dogs leads to statistically significant changes in motility and speed parameters of spermatozoa. We believe that these changes are the result of a modified protein profile of the SP, with a proven increased protein presence of high molecular weight (MW) around and above 200 kDa, and the presence of an increased amount of low MW proteins under 12.4 kDa.

Key words: dog; prostate; seminal plasma protein; spermatozoa

БИОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА СПЕРМАТОЗОИДИТЕ И СЕМЕНИТЕ ПЛАЗМЕНИ ПРОТЕИНИ КАЈ КУЧИЊАТА СО БЕНИГНА ХИПЕРПЛАЗИЈА НА ПРОСТАТАТА

Бенигната хиперплазија на простатата (BPH) се јавува кај мажи, кучиња и поретко кај други видови. BPH е состојба на ендокрина дисрегулација поврзана со возраста, која кај кучињата е најчеста кај некастрирани мажјаци по 6 години старост. Информации за ефектот на BPH врз квалитетот на спермата и семените плазмени протеини (SPPs) се од голем интерес за практиката на вештачко осеменување и криопрезервацијата на спермата. Целта на оваа студија беше да се процени големината и структурата на простатата со ехографски и радиографски слики; да се процени квалитетот на спермата со CASA и да се споредат со HPLC и SDS-PAGE-анализа профилите SPPs на здрави кучиња (BPH–) и кучиња со BPH (BPH+). Зголемувањето на обемот на ејакулатот ($4,96 \pm 2,28$ за BPH+ и $3,59 \pm 2,0$ за BPH–, $p = 0,03$) и алкализацијата на спермата (pH $7,18 \pm 0,13$ за BPH+ и pH $6,74 \pm 0,11$ за BPH–) кај кучиња со BPH беа докажани. Статистички значајни разлики се утврдени во подвижноста, прогресијата и брзината на спермата помеѓу двете групи. Утврдено е дека областа на главата на спермата кај кучињата со BPH е помала, $20,89 \pm 2,34 \mu\text{m}^2$, додека кај здрави кучиња оваа вредност е $29,11 \pm 6,21 \mu\text{m}^2$. Резултатите од HPLC покажа дека BPH е поврзана со промени во количеството и содржината на одредени протеини од семената плазма (SP). Протеиската карактеризацијата дава информации дека протеините на SP можат да послужат како релевантни маркери за евалуација на биолошкиот потенцијал на спермата. Како

Методи на изкуствено осеменяване при кучето

Д-р Мирослав Генов

Многопрофилна ветеринарна клиника България, гр. София, Горна Баня, ул. „Лилия“ 8

Задочен докторант към ИБИР „Акад.К.Братанов“ при БАН

Член на European Veterinary Society for Small Animal Reproduction-EVSSAR



Д-р Мирослав Генов

РЕЗЮМЕ

Методи на изкуствено осеменяване при кучето

През последните две десетилетия изкуственото осеменяване при кучетата става все по широко разпространена и общоприета техника за разплод.

Първото документирано и успешно изкуствено осеменяване при кучето е през 1785 г. от Spallanzani, а първото успешно използване на замразена кучешка сперма е през 1969 г. от Seager.

Методите на изкуствено осеменяване при кучетата са: вагинален и вътрематочен.

Анатомичните характеристики на женското куче трябва да се познават добре, за да се предотвратят неуспехите по време на инсеминация.

Интраматочна едоскопска инсеминация е най-широко разпространен и използван в цял свят. Много от водещи специалисти в репродукцията го препоръчват като метод дори и при инсеминация със свежа сперма (статистически резултатите са много по добри).

SUMMARY

Techniques for artificial insemination in the bitch

Over the last two decades, artificial insemination in dogs has become a widely accepted breeding technique.

The first documented and effective artificial insemination in the dog was in 1785 by Spallanzani, and the first successful use of frozen canine sperm was in 1969 by Seager.

Methods to perform AI are: vaginal and intrauterine.

Understanding of canine gross vaginal anatomy is crucial to success with artificial insemination.

Endoscopic transcervical insemination (TCI) is internationally recognized and the most widely used method. Most of the world's leading specialists in reproduction recommend this technique even when fresh semen is used (shows higher success rate).

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА СЕРТОЛИЕВО-КЛЕТЪЧЕН ТУМОР ПРИ КУЧЕ ДВУСТРАНЕН КРИПТОРХИД

Мирослав Генев

„Многопрофилна ветеринарна клиника България“

Резюме

В настоящата статия е представен клиничният случай на пациент с двустранен крипторхизъм и сертолиево-клетъчен тумор с произход левия крипторхиден тестис. Кучето е било активно работно куче в планинска спасителна служба, а от 5 години е пенсионирано и прието за отглеждане от приемно семейство на частни лица. Пациентът постъпва в „Многопрофилна ветеринарна клиника България“ с отпадналост и неспецифични симптоми, силно уголемени и силно хиперпигментирани млечни папили, които внушават признаци на феминизация. След абдоминална ехография е доказана силно кръвоснабдена абдоминална маса с размер 18/15 см.

Въз основа на резултатите от диагностичните изследвания и клиничния преглед е извършена експлораторна лапаротомия, която доказва, че масата има за произход левия крипторхиден тестис, а пациентът е и двустранен крипторхид. Абдоминалната маса беше силно кръвоснабдена и отстранена с помощта на коагулация Valleylab FT10 Electrosurgical Generator, Covidien. Беше изпратен материал за патохистологично изследване във външна лаборатория, който доказва сертолиево-клетъчен тумор. Следоперативният период протече гладко и пациентът беше изписан след 72 часа.

Настоящият случай потвърждава нуждата от пълен клиничен преглед на пациента, анализ на зоната на скротума и позиционирането на тестисите още в първите месеци от живота на всяко мъжко куче. Всички крипторхиди трябва да бъдат кастрирани максимално рано, преди да се проявят други клинични признаци [2].

Ключови думи: крипторхизъм, тумор на тестиси, сертолиево-клетъчен тумор

CLINICAL CASE OF SERTOLI CELL TUMOR IN A DOG WITH BILATERAL CRYPTORCHIDISM

Miroslav Genov

Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria

Summary

This article presents the clinical case of a patient with bilateral cryptorchidism and Sertoli cell tumor originating from the left cryptorchid testis. The dog was an active working dog in a mountain rescue service, and has been retired for 5 years and adopted by a private foster family. The patient was admitted to the Multidisciplinary Veterinary Clinic Bulgaria with weakness and nonspecific symptoms, severely enlarged and hyperpigmented mammary papillae, suggesting signs of feminization. After abdominal ultrasound, a highly vascularized abdominal mass with an exchange ratio of 18/15 cm was demonstrated.

Based on the results of the diagnostic tests and clinical examination, an exploratory laparotomy was performed, which demonstrated that the mass originated from the left cryptorchid testis and that the patient was also bilaterally cryptorchid. The abdominal mass was well-vascularized and removed using coagulation Valleylab FT10 Electrosurgical Generator, Covidien. Material was sent for histopathological examination to an external laboratory, which proved Sertoli cell tumor. The postoperative period was successful and the patient was discharged from the clinic after 72 hours.

The present case confirms the need for a complete clinical examination of the patient, analysis of the scrotal area and testicular positioning in the first months of life of every male dog. All cryptorchids should be castrated as early as possible, before other clinical signs appear [2].

Keywords: cryptorchidism, testicular tumor, Sertoli cell tumor